Genetic variations of OprD porin protein in imipenem resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in burn patients

A. Emami[*] M. Zardosht[**] N. Pirbonyeh[**] S. Rostam Pour[**] S. Najafi Pour[***]

*Assistant Professor of Microbiology, Shiraz Burn Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
**M.Sc. in Microbiology, Shiraz Burn Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
***Associate Professor of Virology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

Abstract

Background: Drug resistance is one of the important threats in uncontrolled infections by Pseudomonas aeruginosa, an opportunistic nosocomial pathogen, in burn patients. The presence of OprD porin protein in the bacterial cell wall is one of the mechanisms for resistance against hydrophilic drugs in this bacterium.

Objective: The aim of this study was to evaluate genetic sequence rearrangements of OprD gene in imipenem resistant clinical isolates of pseudomonas aeruginosa in burn patients.

Methods: This cross sectional study was performed in Ghotbeddin Shirazi Hospital from October 2013 to February 2015. A total of 253 wound samples were evaluated for Pseudomonas aeruginosa. All isolates were evaluated using specific sequencing of the target region. Genetic sequence rearrangements were compared with the sensitivity pattern of the isolates to the imipenem.

Findings: Pseudomonas aeruginosa was found in 22% of the samples in Shiraz burn center. More than 90% of the isolates were multi drug resistant while only 25% were sensitive to imipenem. More than 80% of the imipenem resistant isolates had rearrangement in the gene associated with OprD protein.

Conclusion: With regards to the results, it seems that Pseudomonas aeruginosa, as a prevalent microorganism in burn wounds, has rearrangement in the gene associated with OprD porin protein. This rearrangement may play a role in drug resistance of the Pseudomonas aeruginosa isolates in hospitalized patients.

Keywords: Burns, Pseudomonas Aeruginosa, Imipenem, OprD Protein

Citation: Emami A, Zardosht M, Pirbonyeh N, Rostam Pour S, Najafi Pour S, Genetic variations of OprD porin protein in imipenem resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in burn patients. J Qazvin Univ Med Sci. 2016; 19 (6): 29-36.

Corresponding Address: Sohrab Najafipour, Department of Microbiology, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Fars, Iran
Email: sohrabnajafipour@yahoo.com
Tel: +98-917-7017174
Received: 14 Apr 2015
Accepted: 15 Jul 2015

بررسی تغییرات ژنتیکی پورین پروتئین OprD در جدایه‌های بالینی پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی‌پنم در بیماران سوختگی

دکتر امیر امامی* میترا زردشت** ندا پیربنیه** سجاد رستم پور** دکتر سهراب نجفی‌پور***

* استادیار میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سوختگی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
** فوق لیسانس میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سوختگی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
*** استادیار ویروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: فسا، دانشگاه علوم پزشکی فسا، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی، تلفن ۰۹۱۷۷۰۱۷۱۷۴
Email: sohrabnajafipour@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۱

چکیده

زمینه: مقاومت در باکتری پسودوموناس‌آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین تهدیدها در بروز عفونت غیرقابل کنترل توسط این عامل فرصت‌طلب بیمارستانی در بیماران سوختگی است. یکی از مکانیسم‌های مقاومت این باکتری نسبت به داروهای هیدروفیل، وجود پورین پروتئین OprD در دیواره آن است.

هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی تغییرات توالی ژنتیکی ژن OprD در جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی‌پنم در بیماران سوختگی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی از مهر ماه ۱۳۹۲ تا بهمن ۱۳۹۳ در بیمارستان قطب‌الدین شیرازی انجام شد. در این مدت، ۲۵۳ نمونه زخم سوختگی بیماران بستری از نظر رشد میکروبی بررسی و باکتری‌های پسودوموناس‌آئروژینوزا شناسایی شد. تمامی جدایه‌ها با استفاده از ترادف‌یابی اختصاصی ناحیه مورد مطالعه بررسی شدند. تغییرات موجود در توالی با الگوی حساسیت دارویی جدایه‌ها نسبت به داروی ایمی‌پنم مقایسه گردید.

یافته‌ها: شیوع باکتری پسودوموناس آئروژینوزا در مرکز سوختگی شیراز ٪۲۲ بود. بیش از ٪۹۰ پسودوموناس‌آئروژینوزاها مقاوم چند دارویی بودند و تنها ٪۲۵ آن‌ها حساسیت به ایمی‌پنم داشتند. بیش از ٪۸۰ نمونه‌های مقاوم به ایمی‌پنم از نظر ترادف‌یابی تغییر در ساختار ژن مرتبط با پروتئین OprD داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد پسودوموناس آئروژینوزا به عنوان میکروارگانیسم شایع در زخم بیماران سوختگی، دارای تغییر در ساختار ژنومی پورین پروتئین دیواره‌ای OprD است. این امر می‌تواند در بروز مقاومت این باکتری در بیماران بستری نقش داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: سوختگی‌ها، پسودوموناس آئروژینوزا، ایمی‌پنم، پروتئین OprD

مقدمه:

پسودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی و بیماری‌زای فرصت‌طلب است که می‌تواند در تمام محیط‌های مرطوب به رشد و تکثیر بپردازد.[۱] این باکتری فرصت‌طلب عامل بسیاری از عفونت‌های شدید مانند اندوکاردیت، مننژیت و عفونت‌های خون (به ویژه تحت شرایط تضعیف سیستم ایمنی افراد) است.[۲و۳] این باکتری همچنین یکی از عوامل مهم و جدی در عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در زخم بیماران سوختگی و بیماران دچار فیبروز سیستیک است.[۴و۵] گستردگی این باکتری در محیط و قدرت مقاومت‌پذیری آن نسبت به داروهای ضدمیکروبی یکی از عوامل اصلی افزایش مدت زمان بستری بیماران (به ویژه قربانیان سوختگی) در بیمارستان و افزایش هزینه‌های درمان و متأسفانه مرگ و میر آن‌هاست.[۳و۶و۷]

در حال حاضر با توجه به قدرت تغییرپذیری بالای پسودوموناس آئروژینوزا نسبت به داروهای ضدمیکروبی مورد استفاده، داروهای محدودی از این گروه وجود دارند که می‌توانند بر روی این باکتری مؤثر باشند.[۸] داروهای

خانواده بتا-لاکتام (گروه کارباپنم‌ها به ویژه ایمی‌پنم) یکی از مؤثرترین گروه‌های دارویی با طیف عملکردی وسیع بر روی باکتری‌های گرم منفی هستند.[۱و۹] این داروها به صورت گسترده در کنترل عفونت بیماران بستری (به ویژه قربانیان سوختگی) استفاده می‌شوند.[۱۰] همچنین مشخص شده است که مکانیسم‌های متعددی از جمله تولید آنزیم‌های متالوبتا-لاکتاماز، افزایش عملکرد پمپ‌های برون‌ریز افلاکس و تغییر ساختار پورین پروتئین دیواره‌ای OprD در بروز مقاومت دارویی باکتری پسودوموناس آئروژینوزا نقش مهمی دارند.[۱۱و۱۲] در حال حاضر کارباپنم‌ها یکی از مهم‌ترین داروهای انتخابی در درمان عفونت‌های پسودوموناس آئروژینوزا هستند که با مهار عملکرد پپتیدوگلیکان- ترانس پپتیداز، از طریق اتصال به پروتئین‌های اتصال‌شونده به پنی‌سیلین (PBP) واقع در سطح خارجی سیتوپلاسم، باعث کنترل عفونت حاصل از این باکتری می‌شوند.[۱۳] با توجه به این که ساختار داروهای این گروه، از ترکیب‌های هیدروفیل است، ورود آن‌ها از طریق کانال‌های آبی پورین پروتئین دیواره باکتری انجام می‌شود. تحقیق‌ها نشان داده‌اند که پورین پروتئین اصلی دخیل در ورود داروهای کارباپنم، یک پروتئین موجود در غشای خارجی باکتری تحت عنوان OprD است.[۱۴] با توجه به نقش این پروتئین در برداشت دارو از محیط باکتری مشخص شده است که بروز موتاسیون در ساختار توالی کدکننده این پروتئین می‌تواند در کاهش سطح ورود دارو به درون باکتری و همچنین غیرفعال شدن باکتری نقش بسزایی داشته باشد.[۱۱]

تاکنون مطالعه‌های متعددی بر روی مکانیسم‌های مختلف مقاومت در پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران سوختگی انجام گرفته است. نتایج مطالعه‌های انجام شده در مرکز تحقیقات سوختگی شیراز با هدف بررسی حضور آنزیم‌های هیدرولیزکننده، پمپ‌های افلاکس و سطح مؤثر داروهای ضدمیکروبی بر روی این جدایه‌های بالینی بوده و نشان داده است که مکانیسم‌های دیگری علاوه بر موارد ذکر شده در بروز مقاومت در این جدایه‌ها دخیل هستند.[۱۵و۱۶] بنابراین مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تغییرات توالی ژنتیکی ژن OprD در جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی‌پنم در بیماران سوختگی انجام شد.

❋مواد و روش‌ها:

در این مطالعه مقطعی که از مهر ماه ۱۳۹۲ تا بهمن ماه ۱۳۹۳ در بیمارستان قطب‌الدین شیرازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد، از زخم ۲۵۳ بیمار بستری دچار سوختگی نمونه‌گیری شد. نمونه‌گیری با استفاده از سوآپ استریل و از نواحی حاشیه‌ای زخم بیماران بود که بیش از ۴۸ ساعت از مدت زمان بستری آن‌ها می‌گذشت. نمونه‌های تهیه شده با استفاده از محیط انتقالی و حداکثر طی ۲ ساعت به آزمایشگاه میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سوختگی منتقل و بر روی محیط‌های کشت مک‌کانکی آگار کشت شدند. پلیت‌های تلقیح شده به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردیدند. سپس کلنی‌های تشکیل شده بر روی محیط مک‌کانکی با استفاده از آزمون‌های اختصاصی تشخیصی میکروب‌شناسی زیر جهت تشخیص اولیه پسودوموناس آئروژینوزا ارزیابی شدند: رنگ‌آمیزی گرم، تولید رنگ‌دانه در محیط کشت مولر هینتون آگار، آزمون‌های اکسیداز و کاتالاز، عدم تخمیر بر روی محیط کشت تریپل شوگر آیرون آگار و رشد در دمای ۴۲ درجه سلسیوس. سویه‌های شناسایی شده در مرحله اولیه با استفاده از روش مولکولی تکثیر قطعه SrRNA 16 تأیید نهایی شدند.[۱۷]

پسودوموناس آئروژینوزاهای تأیید شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کربی- بائر) نسبت به داروهای ضدمیکروبی زیر طبق دستور کار استاندارد اداره آزمایشگاه‌های بالینی بررسی شدند:

ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)،

سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم) و پیپراسیلین (۱۰۰میکروگرم).[۳] تمامی دیسک‌ها از شرکت ماست (انگلیس) تهیه شده بودند. در این مرحله از سویه استاندارد ۲۷۸۵۳ پسودوموناس آئروژینوزا به عنوان شاهد حساس استفاده شد.

تمام جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزای مقاوم نسبت به داروهای ضدمیکروبی گروه کارباپنم، به همراه تعدادی از نمونه‌های حساس (همچنین نمونه استاندارد) با استفاده از کیت استخراج ژنومی (بیونیر-کره) مورد استخراج DNA تام قرار گرفتند. برای استخراج از کشت تازه باکتری‌ها در محیط مایع مولر هینتون استفاده شد. ژنوم تام استخراج شده جهت انجام مراحل بعدی آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. در این مرحله از آزمایش، ژنوم استخراج شده از نمونه‌های بالینی تهیه شده از روش تکثیر ژنومی تک مرحله‌ای و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی
DF: 5/-ATGAAAGTGATGAAGTGGAGC-3/
DR: 5/-CAGGATCGACAGCGGATAGT-3/
تکثیر و با استفاده از پرایمرهای
Seq1: 5/-AACCTCAGCGCCTCCCT-3/ و
Seq2: 5/-AGGGAGGCGCTGAGGTT-3/
تعیین توالی و بررسی شدند.[۱۸] مرحله تکثیر در حجم ۵۰ میکرولیتر و با استفاده از ۲ میکرولیتر از ژنوم تهیه شده از هر نمونه انجام شد. مخلوط واکنش مواد زیر بود: بافر PCR با غلظت 1X، ۰/۴ میلی‌مول dNTP، ۱/۵ واحد آنزیم پلی‌مراز Taq، ۱/۵ میلی‌مول کلرید منیزیوم و ۰/۴ پیکومول هر پرایمر. تمام مواد مورد استفاده در این مرحله از شرکت پلاس انگلیس تهیه شده بودند. مرحله تکثیر با استفاده از دستگاه اپندورف طی ۳۵ چرخه انجام شد که قبل از آن دناتوراسیون نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سلیسیوس انجام شده بود. تمام چرخه‌ها شامل ۱ دقیقه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سلیسیوس، ۱ دقیقه زمان اتصال در دمای ۵۰ درجه سلیسیوس و ۱ دقیقه زمان طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس بود. در انتها نیز یک زمان طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. پس از اتمام مراحل تکثیر نمونه‌ها با استفاده از سیستم الکتروفورز افقی، ژل آگاروز ۱ درصد (حاوی ۱ میکرولیتر ژل رِد) و بافر TAE-1X، از نظر تکثیر قطعه مورد نظر (۹bp-۱۳۲۳≈) ارزیابی شدند. برای تعیین طول قطعه نیز از نشان‌گر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (فرمنتاز-آلمان) استفاده گردید. پس از اتمام مرحله الکتروفورز، ژل مورد نظر با دستگاه لومینسانس (ژل داک) بررسی شد. تمام نمونه‌هایی که طول قطعه تکثیر شده آن‌ها با قطعه مورد نظر همخوانی داشت برای تعیین توالی، از روی ژل خالص‌سازی شدند. برای این کار پس از انجام الکتروفورز حجم مناسبی از نمونه‌های تکثیر شده بر روی ژل آگاروز ۱ درصد، قطعه مورد نظر از روی ژل بریده و نمونه‌ها با استفاده از دستور کار شرکت سازنده کیت اختصاصی استخراج ژنوم (بیونیر- کره) از روی ژل خالص‌سازی شدند. سپس نمونه‌ها جهت تعیین توالی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که برای آن‌ها طراحی شده بودند به شرکت 1^{st}step کشور مالزی ارسال شدند. نتایج تعیین توالی در سه گروه نمونه‌های حساس به کاربانپم، مقاوم به کاربانپم و استاندارد طبقه‌بندی و با نرم‌افزار DNA MAN با یکدیگر مقایسه شدند. در این مقایسه، توالی ثبت شده از این ناحیه ژنوم باکتری پسودوموناس آئروژینوزا (PAO1) در بانک ژن با کد دسترسی CAA78448 نیز استفاده گردید.

❋ یافته‌ها:

از ۲۵۳ نمونه مورد بررسی بیش‌ترین نمونه (۱۲۱ نمونه، ۴۷/۸ درصد) مربوط به بخش مردان بود (جدول شماره ۱).

جدول ۱- فراوانی نمونه‌های مورد مطالعه برحسب بخش

بخش	تعداد نمونه	درصد
مردان	۱۲۱	۴۷/۸۲
زنان	۸۳	۳۲/۸۰
کودکان	۴۹	۱۹/۳۸

از نظر جنسیت ۱۴۶ نمونه (۵۷/۷ درصد) مربوط به جنس مذکر و ۱۰۷ نمونه (۴۲/۳ درصد) مربوط به جنس مؤنث بودند. در میان نمونه‌های مورد بررسی، ۵۶ نمونه (۲۲ درصد) به عنوان *پسودوموناس آئروژینوزا* شناسایی و تأیید نهایی شدند (جدول شماره ۲).

جدول ۲- نتایج کشت نمونه‌های مورد مطالعه

نام باکتری	تعداد	درصد
پسودوموناس آئروژینوزا	۵۶	۲۲
استافیلوکوکوس آرئوس	۵۸	۲۲/۹
گرم منفی‌های غیرپسودوموناس آئروژینوزا	۳۳	۱۳
فاقد رشد	۱۰۶	۴۱/۹

از میان جدایه‌های تأیید شده *پسودوموناس آئروژینوزا*، ۲۵ جدایه (۴۴/۶ درصد) مربوط به بخش مردان، ۱۹ جدایه (۳۳/۹ درصد) مربوط به بخش زنان و ۱۲ جدایه (۲۱/۵ درصد) مربوط به بخش کودکان بود. از نظر حساسیت ضدمیکروبی جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا*، ۲۰ نمونه (۳۵/۷ درصد) به مروپنم، ۱۴ نمونه (۲۵ درصد) به ایمی‌پنم و ۵ نمونه (۹ درصد) به کلرامفنیکل حساس و نسبت به سایر دیسک‌های مورد مطالعه مقاوم بودند. در بررسی مولکولی، تمامی جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* حاوی ژن OprD با طول قطعه ۱۳۲۰≈ جفت باز بودند. از میان ۱۴ نمونه حساس به ایمی‌پنم ۵ مورد و از ۴۲ نمونه مقاوم به ایمی‌پنم ۱۵ مورد، به همراه یک نمونه استاندارد که جهت تعیین توالی ارسال شدند. نتایج تعیین توالی به شرح زیر بود: گروه یک در برگیرنده جدایه‌های حساس نسبت به ایمی‌پنم بود که هر پنج مورد تعیین توالی شده از نظر توالی کاملاً مشابه با یکدیگر و مشابه با توالی ثبت شده از جدایه *پسودوموناس آئروژینوزا* (PAO1) در بانک ژن بودند. گروه دو در برگیرنده توالی ۶ جدایه مقاوم به ایمی‌پنم بود که همگی از نظر طول قطعه با یکدیگر برابر بودند، اما موتاسیون‌های متعدد و غیرمشابه با یکدیگر داشتند. گروه سه در برگیرنده ۷ توالی جدایه مقاوم به ایمی‌پنم بود که دارای قطعات حذف شده در نتیجه تغییرات در چارچوب قطعه مورد مطالعه بودند. گروه چهار در برگیرنده ۲ توالی جدایه مقاوم به ایمی‌پنم بود که توالی مشابه جدایه‌های حساس نسبت به ایمی‌پنم داشتند و تغییر معنی‌داری در توالی آن‌ها مشاهده نشد.

❋بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که در بسیاری از موارد بروز مقاومت نسبت به داروی ایمی‌پنم در جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* در مرکز سوختگی قطب‌الدین شیرازی، ژن oprD جدایه ها دچار تغییر و موتاسیون شده بود. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعه‌های مشابه در همین بیمارستان نشان داد که نوع عفونت حاصل از این باکتری کاهش یا افزایش معنی‌داری نداشته است.[۱۶] همچنین *پسودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس آرئوس* دو باکتری شایع در بروز عفونت‌های زخم سوختگی بیماران بستری پس از مدت زمان بیش از ۴۸ ساعت در این مرکز درمانی بودند. البته شیوع عفونت *استافیلوکوکوس آرئوس* افزایش ۷ درصدی داشت که این امر می‌تواند به دلیل توجه بیش‌تر به درمان عوامل عفونی باکتری‌های گرم منفی به ویژه *پسودوموناس آئروژینوزا* باشد.[۱۵]

تاکنون مطالعه‌های متفاوتی در رابطه با مکانیسم‌های مختلف بروز مقاومت در این مرکز انجام و نحوه مقابله با آن‌ها نیز در روش‌های درمانی لحاظ شده است.[۱۹] با این حال مطالعه‌ها نشان داده‌اند که مکانیسم‌های دیگری غیر از آنزیم‌های هیدرولیزکننده داروها و پمپ‌های افلاکس در بروز مقاومت نقش دارند که این امر با توجه به نوع عامل عفونت می‌تواند به دلیل عدم ورود دارو به درون باکتری به مقدار کافی از نظر دوز عملکردی آن باشد.[۱۱]

در مطالعه حاضر اکثر جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم چندداروییی (MDR) بودند. براساس سایر مطالعه‌ها نیز تقریباً بروز مقاومت به صورت چند دارویی در مراکز درمانی سوختگی کشور شایع است.[۲۰] در مطالعه

حدادی و همکاران در سال ۱۳۸۷ مقاومت به گروه‌های دارویی سفالوسپورین‌ها بیش از ۹۰ درصد بود.[۲۱] مطالعه سال ۱۳۸۶ ژاپونی و همکاران در شیراز نشان داد که در آن زمان جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* نسبت به اکثر داروهای ضدمیکروبی به جز کارباپنم‌ها مقاوم بودند و این گروه دارویی بیش‌ترین تأثیر را (بیش از ۹۵ درصد) در مهار و کنترل عفونت حاصل از *پسودوموناس آئروژینوزا* داشتند.[۲۲] نتایج مطالعه حاضر نشان داد اگرچه در میزان شیوع باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* تغییر چشمگیری رخ نداده، اما میزان مقاومت آن به داروهای ضدمیکروبی انتخابی در حال افزایش چشمگیری بوده است که این امر می‌تواند باعث بروز ناگهانی افزایش عفونت توسط این عامل فرصت‌طلب بیمارستانی شود.

در مطالعه حاضر توالی جدایه‌های حساس به دارو کاملاً با سویه استاندارد حساس مورد استفاده در این مطالعه و سویه ثبت شده در بانک ژن مشابه بود. در مورد توالی به دست آمده از جدایه‌های مقاوم، با توجه به این که در بیش از ۸۰ درصد آن‌ها تغییرات زیادی در چارچوب منطقه ژنی مورد مطالعه مشاهده شد، این تغییرات می‌تواند در بروز مقاومت نسبت به این دارو در جدایه‌های بالینی پسودوموناس آئروژینوزا شایع در این مرکز نقش بسزایی داشته باشد. در مورد ۲ جدایه مقاوم تعیین توالی شده که فاقد تغییرات در منطقه ژنی مورد مطالعه بودند، به نظر می‌رسد مکانیسم‌های مقاومت دیگری از جمله مکانیسم‌های آنزیمی هیدرولیزکننده یا افلاکس پمپ‌ها در این مورد دخیل باشند و پورین پروتئین OprD در بروز مقاومت آن‌ها نقش بسزایی نداشته باشد. به طور کلی مکانیسم غالب مقاومت در جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* شایع در مرکز سوختگی قطب‌الدین شیرازی، تغییرات در پورین پروتئین‌های دیواره‌ای OprD و عدم ورود دارو با دوز کافی به درون باکتری بود. از این رو پیشنهاد می‌شود به دلیل مؤثر بودن کارباپنم‌ها در درمان عفونت‌های پسودوموناسی، به این نکته توجه شود که این گروه دارویی هیدروفیل هستند، همچنین با توجه به نقش این پورین پروتئین در انتقال ترکیب‌های آب‌دوست به درون باکتری باید از حضور این مکانیسم مقاومت به منظور جای‌گزین کردن سایر داروهای مؤثر اطلاع کافی کسب گردد. پیشنهاد می‌شود مراکز درمانی علاوه بر بررسی الگوی مقاومت دارویی، مکانیسم‌های دخیل در بروز مقاومت را به صورت دوره‌ای انجام دهند تا بتوانند در هنگام شیوع هر نوع مکانیسم مقاومتی در عامل عفونی فرصت‌طلب با آن مبارزه کنند.

❋سپاس‌گزاری:

از حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه‌های علوم پزشکی شیراز و فسا در اجرای این مطالعه تشکر می‌شود.

❋مراجع:

1. Kumar SH, De AS, Baveja SM, Gore MA. Prevalence and risk factors of Metallo beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter species in burns and surgical wards in a tertiary care hospital. J Lab Physicians 2012 Jan; 4 (1): 39-42.

2. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Mangold P, Amann S, Akalin E, et al. Characterization of beta-lactamase gene blaPER-2, which encodes an extended-spectrum class A beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1996 Mar; 40 (3): 616-20.

3. Aktas Z, Satana D, Kayacan C, Can B, Gönüllü N, Küçükbasmacı O. Antibiotic susceptibility rates and beta-lactam resistance mechanisms of Pseudomonas aeruginosa strains. Mikrobiyol Bul 2012 Jul; 46 (3): 386-97.

4. Hafiane A, Ravaoarinoro M. Characterization of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from cystic fibrosis patients by different typing methods. Pathol Biol (Paris) 2011 Oct; 59 (5): e109-14.

5. Vinodkumar CS, Hiresave S, Kandagal Giriyapal B, Bandekar N. Metallo Beta lactamase producing pseudomonas aeruginosa and its association with diabetic foot. Indian J Surg 2011 Aug; 73 (4): 291-4.
6. Jácome PR, Alves LR, Cabral AB, Lopes AC, Maciel MA. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence factors in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates from Recife, State of Pernambuco, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2012 Dec; 45 (6): 707-12.
7. Morello E, Saussereau E, Maura D, Huerre M, Touqui L, Debarbieux L. Pulmonary bacteriophage therapy on Pseudomonas aeruginosa cystic fibrosis strains: first steps towards treatment and prevention. PloS One 2011 Feb 15; 6 (2): e16963.
8. Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard JL, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2011 Mar; 49 (3): 1048-57.
9. Vahdani M, Azimi L, Asghari B, Bazmi F, Rastegar Lari A. Phenotypic screening of extended-spectrum ss-lactamase and metallo-ss-lactamase in multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa from infected burns. Ann Burns Fire Disasters 2012 Jun 30; 25 (2): 78-81.
10. Picao RC, Carrara-Marroni FE, Gales AC, Venancio EJ, Xavier DE, Tognim MC, et al. Metallo-beta-lactamase-production in meropenem-susceptible Pseudomonas aeruginosa isolates: risk for silent spread. Mem Inst Oswaldo Cruz 2012 Sep; 107 (6): 747-51.
11. Ocampo-Sosa AA, Cabot G, Rodríguez C, Roman E, Tubau F, Macia MD, et al. Alterations of OprD in carbapenem-intermediate and -susceptible strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients with bacteremia in a Spanish multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 2012 Apr; 56 (4): 1703-13.
12. Franco MR, Caiaffa-Filho HH, Burattini MN, Rossi F. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in a Brazilian university hospital. Clinics (Sao Paulo) 2010; 65 (9): 825-9.
13. Miller AD, Ball AM, Bookstaver PB, Dornblaser EK, Bennett CL. Epileptogenic potential of carbapenem agents: mechanism of action, seizure rates, and clinical considerations. Pharmacotherapy 2011 Apr; 31 (4): 408-23.
14. Igbinosa E, Odjadjare EE, Igbinosa IH, Orhue PO, Omoigberale MN, Amhanre NI. Antibiotic synergy interaction against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from an abattoir effluent environment. Sientific World Journal 2012; 2012: 308034.
15. Doi Y, Ghilardi AC, Adams J, de Oliveira Garcia D, Paterson DL. High prevalence of metallo-beta-lactamase and 16S rRNA methylase coproduction among imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa isolates in Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2007 Sep; 51 (9): 3388-90.
16. Farra A, Islam S, Strålfors A, Sörberg M, Wretlind B. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of Pseudomonas aeruginosa to imipenem and meropenem. Int J Antimicrob Agents 2008 May; 31 (5): 427- 33.
17. Emami A, Bazargani A, Mohammadi AA, Zardosht M, Jafari SMS. Detection of bla PER-1 & bla Oxa10 among imipenem resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated fromburn patients hospitalized in

Shiraz Burn Hospital. Iran J Microbiol 2015; 7 (1): 7-11.
18. Rostam Pour S, Gorzin AA, Motamedi Gh. Frequency of blaKHM-1, blaIMP-1,2 and blaSPM-1 genes in clinical isolates of metallo β-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in hospitalized burned patients in Ghotbeddin Shirazi Hospital. J Qazvin Univ Med Sci 2015; 19 (2): 21-9.
19. Geng Y, Sarage S, SR. Effects of nicotine on the imune response II. Chronic nicotine treatment induces T cell angergy. J Immunol. 1996; 156 (1): 2384-90.
20. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLs genes among 9. multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist 2009 Mar; 15 (1): 37-
21. Hadadi A, Rasoulinejad M, Maleki Z, Yonesian M, Shirani A, Kourorian Z. Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative bacilli of nosocomial origin at 2 university hospitals in Iran. Diagn Microbiol Infect Dis 2008 Mar; 60 (3): 301-3.
22. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the South of Iran. Burns 2006 May; 32 (3): 343-7.